

TIPO DE FIBRA y PROTEÓLISIS EN MÚSCULOS DE NOVILLOS ANGUS

Fiber type and proteolysis in Angus steers muscles

Motter¹, M.M., Corva², P.M., Huguet¹, M.J., Bailleres³, M.A.,
Flores¹, M. y Soria^{1*}, L.A.

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad Nacional de Mar del Plata. Facultad de Ciencias Agrarias
Chacra Experimental Integrada Chascomús (MAA-INTA)

RESUMEN

La terneza de la carne está condicionada por muchos factores, pero depende fundamentalmente de la magnitud del proceso de proteólisis *postmortem* controlado por el sistema enzimático calpaínas/calpastatina. Este sistema ha sido muy estudiado, desde el punto de vista bioquímico y genético, llegando a identificar alelos más favorables en algunos genes involucrados. En el caso particular de la calpastatina, se encuentra diferencia de actividad entre músculos y esto se asocia a la bien conocida diferencia en terneza entre músculos de una misma res. El objetivo de este trabajo fue evaluar la relación entre la proporción del tipo de fibra muscular y la actividad de calpastatina en tres músculos de novillos Angus (*infraespinatus*, *semitendinosus* y *triceps brachii*), engordados en sistema similar y faenados con 364 ± 17 kg de PV, $4,63 \pm 1,26$ mm de EGD y $44,32 \pm 4,28$ cm² de AOB. En cada músculo se determinó el tipo de fibra muscular, la actividad de la calpastatina y el índice de fragmentación miofibrilar. Los porcentajes de áreas relativas de los tres tipos de fibra (Ia, IIa, IIx) fueron significativamente diferentes entre los tres músculos analizados. El *infraespinatus* presentó mayor porcentaje de área relativa de fibras tipo I y IIa, y menor de tipo IIx, en contraposición con el *semitendinosus* cuya relación fue inversa, en cambio el *triceps brachii* mostró similares proporciones de los tres tipos. El índice de fragmentación miofibrilar fue significativamente menor y la actividad de calpastatina fue mayor en el *semitendinosus* que en los otros dos músculos analizados. Estos resultados indican que la actividad de la enzima calpastatina es mayor en el músculo con mayor porcentaje de área relativa de fibra tipo IIx, el cual presenta menor índice de fragmentación.

Palabras clave. bovinos para carne, calpastatina, tipo de fibra muscular, índice de fragmentación miofibrilar.

SUMMARY

Although meat tenderness is determined by many factors, it fundamentally depends on the *postmortem* proteolysis controlled by the calpain/calpastatin system. Biochemical and genetic aspects of this system have been studied extensively, allowing for the identification of favorable alleles in some of the genes involved in the process. Differences in calpastatin activity have been found between muscles, which partially explain the variability in tenderness between muscles of the same carcass. The goal of this study was to evaluate the relationship between the proportion of different types of muscle fibers and calpastatin activity in three muscles of Angus steers (*infraespinatus*, *semitendinosus* and *triceps brachii*), slaughtered with FW (kg) 364 ± 17 , BFT (mm) 4.63 ± 1.26 and REA (cm²) 44.32 ± 4.28 . Muscle fiber type, calpastatin activity and myofibrillar fragmentation index were determined in each muscle. Differences were found in relative area of each fiber type (Ia, IIa and IIx) among the three muscles. A higher proportion of type I and IIa fibers, and consequently a smaller proportion of type IIx fibers were found in the *infraespinatus* muscle than in the *semitendinosus*, which showed an inverse relation. A similar proportion of each fiber were found in *triceps brachii*. A significantly lower myofibrillar fragmentation index and a higher calpastatin activity were found in the *semitendinosus* muscle, when compared to both other muscles analyzed. These results indicate that the calpastatin activity is higher in the muscle that displays the higher proportion of type IIx fibers, which also has a lower myofibrillar fragmentation index.

Key words. beef cattle, calpastatin, fiber type, myofibrillar fragmentation index.

Recibido: julio de 2017

Aceptado: febrero de 2018

¹ Cátedra de Genética. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. Av. Chorroarín 280 (1427). Buenos Aires. Argentina. lsoria@fvet.uba.ar

² Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. C.C. 276 (7620). Balcarce. Argentina.

³ Chacra Experimental Integrada Chascomús (MAA-INTA). Mitre 202. Chascomús. Argentina.

Introducción

La terneza de la carne bovina es uno de los atributos de calidad más importante y el más valorado por los consumidores (Miller et al., 1992). La misma está determinada por factores genéticos y ambientales (revisado por Soria y Corva, 2004). La magnitud del proceso de proteólisis *postmortem* es uno de los principales factores que determinan la terneza (Koohmaraie, 1995) a través de la degradación de las proteínas responsables de mantener la estructura del músculo (Taylor y Koohmaraie, 1998). Dicho proceso comienza a las 12 hs *postmortem* y es llevado a cabo por el sistema de proteasas dependientes de Ca^{+2} , que involucra a dos proteasas ubicuas: μ -calpaína y m-calpaína, a una proteasa músculo-específica: calpaína 3 (p94) y a un inhibidor endógeno: la calpastatina (Kemp et al., 2010). Este sistema sería el mayor responsable de la variación de la terneza de la carne, de manera que una mayor terneza estará determinada por alta actividad de μ -calpaína y baja actividad de calpastatina (Koohmaraie, 1996).

La composición del tipo de fibra muscular, su proporción y diámetro están asociados con la calidad de carne, particularmente con color, capacidad de retención de agua, terneza y veteado (Totland et al., 1988, Kirchofer et al., 2002). Cada músculo tiene una composición particular de tipos de fibras musculares y tejido conectivo, que puede variar considerablemente incluso entre las regiones adyacentes dentro del mismo músculo (Totland et al., 1988, Kirchofer et al., 2002) y además, está condicionada por varios factores como son el sexo, la edad, el tipo de músculo, la raza y la acción de distintas hormonas (Karlsson et al., 1999). Las fibras musculares se pueden clasificar según su velocidad de contracción en lentas o tipo I y rápidas o tipo II, las que a su vez se subdividen en IIa, IIb o IIx. Según su capacidad oxidativa se pueden clasificar como oxidativas, intermedias y no oxidativas. Las oxidativas utilizan glucosa como fuente de energía mientras que las no oxidativas utilizan glucógeno. Las fibras I (rojas) son lentas oxidativas, las IIa son rápidas intermedias (oxidativas y glicolíticas) y las IIx (blancas) son rápidas glicolíticas. La composición del tipo de fibra de cada músculo se relaciona con el potencial oxidativo del mismo y podría ser un factor predictivo del potencial de veteado y de terneza de la carne. Se ha hallado, por ejemplo, que el porcentaje de fibra I está correlacionado positivamente con veteado y con terneza (Hwang et al., 2010), en contraste con el porcentaje de fibras blancas o IIx que se correlacionan negativamente con dichos atributos de calidad de carne (Calkins et al., 1981, Hwang et al., 2010).

Teniendo en cuenta el rol de la calpastatina en el proceso de tiernización *postmortem* de la carne y como parte de un proyecto orientado a estudiar los mecanismos de regulación del gen que la codifica, el objetivo del presente trabajo fue determinar la relación entre la actividad de calpastatina, el tipo de fibra muscular y el índice de fragmentación miofibrilar, en tres músculos de novillos Angus engordados en pastoreo y faenados a edad y grado de terminación similar. Se postula que existen diferencias entre distintos músculos en la actividad de calpastatina y las

variables asociadas al proceso de tiernización de la carne, que son explicadas al menos parcialmente por la distinta proporción de tipos de fibra.

Materiales y Métodos

Muestras: Se utilizaron 8 novillos de la raza Angus de la Chacra Experimental Integrada Chascomús (MAA-INTA), nacidos de hembras múltiparas inseminadas con un mismo toro, destetados con 181 kg promedio y faenados con 364 ± 17 kg de Peso Vivo (PV) a los 19 meses de edad con $4,63 \pm 1,26$ mm de Espesor de Grasa Dorsal (EGD) y $44,32 \pm 4,28$ cm² de Área de Ojo de Bife (AOB). Los novillos fueron criados en verdeos de raigrás anual o pasturas polifíticas y terminados sobre lotus (*Lotus tenuis*), con Ganancia Diaria de Peso Vivo (GDPV) de 280 g/día hasta 720 g/día según etapa del año y recurso forrajero. Se recolectaron muestras por duplicado de tres músculos (*infraespinatus*, *semitendinosus* y *triceps brachii*) en el frigorífico Carnes del Salado S.A. (Castelli, Buenos Aires) dentro de las 2 hs *postmortem* y se conservaron a 4°C o en nitrógeno líquido, según el tipo de análisis a realizar en cada una de ellas. En cada muestra fueron determinados los genotipos para el marcador UoG-CAST por PCR-RFLP según Motter et al. (2013).

Análisis del tipo de fibra: muestras de 1,5 cm de largo por 0,5 cm de ancho fueron cortadas en dirección de la fibra muscular e inmediatamente congeladas en nitrógeno líquido por inmersión y almacenados a -80 °C hasta su análisis. Se obtuvieron una serie de secciones de 10 micras de espesor, en un crióstato Reichert-Jung 1800 a -27°C, para su análisis por inmunquímica e inmunohistoquímica según Graziotti et al. (2011), para determinar el área relativa de la fibra (AR) y el porcentaje de área relativa para cada fibra (%AR).

Determinación de la actividad de calpastatina (AC): se extrajo la calpastatina a partir de 5 g de músculo (conservado a -80°C), homogeneizado en 30 ml de buffer de extracción (100mM Tris buffer, 5 mM EDTA, 10mM β -mercaptoetanol, pH 8,3) con mixer OMNI-TH® a 13.500 rpm durante 30 seg y luego centrifugado a 20.000 g a 4°C durante 30 min. Cada homogenato fue filtrado y 1 ml de sobrenadante fue calentado a 100°C durante 5 min y posteriormente centrifugado a 20.000 g por 5 min. Cada sobrenadante fue transferido a otro tubo limpio refrigerado con hielo y la AC fue determinada según Pomponio y Ertbjerg (2012) con leves modificaciones. Tres diluciones del sobrenadante (0 ml, 0,2 ml y 0,4 ml) en medio de dilución (20 mM Tris Buffer, 1mM EDTA, 10 mM β -mercaptoetanol, pH: 7,5) conteniendo 0,2 U de m-calpaína fueron incubadas durante 1 min a 4°C. A cada muestra se agregó el buffer de reacción (100 mM Tris Buffer, 10 mM β -mercaptoetanol, 5 mg/ml de caseína, 5 mM Cl_2Ca , pH: 7,5) en una relación de 3:1 y se incubó durante 1 h a 25 °C. Finalmente, cada reacción fue detenida mediante el agregado de ácido tricloroacético al 5%, se centrifugó durante 3 min a 20.000 g y se midió la absorbancia a 280 nm. Se utilizaron tres tubos control con las mismas diluciones de sobrenadante, tratados con el mismo protocolo pero sin el agregado de m-calpaína, muestras que fueron frenadas a tiempo cero con ácido

tricloroacético al 5%. Con los valores obtenidos se construyó una curva, se calculó la pendiente restando la absorbancia de cada tubo a tiempo cero y se expresó como unidades de actividad/gr de tejido.

Determinación del Índice de Fragmentación Miofibrilar (IFM): a partir de muestras maduras a 4°C durante 48 hs *postmortem* y conservadas envasadas al vacío a -20°C durante 2 semanas, se determinó el IFM mediante el método de turbidimetría de Hopkins et al. (2000). La concentración proteica se determinó por el método de Lowry et al. (1951), utilizando diluciones por triplicado de 0,5 mg de proteína/ml, para medir las absorbancias a 540 nm.

Análisis estadístico: los resultados se compararon a través de análisis de varianza (ANOVA) en un diseño completamente aleatorizado, a partir del siguiente modelo: $y_{ij} = \mu + \tau_i + e_{ij}$, donde μ es la media general, τ_i es el efecto del tratamiento y e_{ij} es el término de error aleatorio. Las diferencias entre medias se compararon mediante test de Tukey ($p < 0,05$) y las relaciones entre las variables estudiadas fueron analizadas mediante correlación de Pearson. Se utilizó el análisis de componentes principales para describir la muestra multivariada en una dimensión menor y el resultado se presentó en un gráfico biplot para visualizar relaciones entre las observaciones y las variables. Los análisis fueron realizados mediante el programa estadístico InfoStat (Di Rienzo et al., 2014).

Resultados y Discusión

La relación entre AC, IFM y tipo de fibra muscular se determinó utilizando tres músculos: *infraespinatus*, *semitendinosus* y *triceps brachii* (nombre comercial: marucha, peceto y paleta, respectivamente) los cuales tienen características contrapuestas, principalmente en terneza y composición de tipo de fibra (Kirchofer et al., 2002). El *infraespinatus* está clasificado como uno de los más tiernos, el *semitendinosus* entre los menos tiernos y el *triceps brachii* es un músculo de terneza intermedia (Stolowski et al., 2006; Huff-Lonergan, 2009).

Las fibras que componen cada músculo fueron clasificadas en tipos I, IIa y IIx por análisis de inmunohistoquímica e inmunocitoquímica (Figura 1). La comparación de %AR indica que existieron diferencias significativas en la composición de los tipos de fibra en cada músculo analizado (Cuadro 1). El *infraespinatus* es el que presentó mayor % AR de fibras tipo I y IIa, con relación a las IIx, en cambio el *semitendinosus* mostró una relación inversa, con preponderancia de fibras IIx. En el caso de *triceps brachii* se identificó aproximadamente un tercio de cada tipo de fibra. Estos resultados son semejantes a los descritos por Kirchofer et al. (2002). En los músculos *triceps brachii* y *semitendinosus* se identificó un cuarto tipo de fibra, denominado IIxa, pero no se observaron diferencias significativas ($p = 0,0832$) en el % AR entre ellos.

La terneza de la carne puede ser evaluada mediante distintas metodologías que sólo se pueden aplicar luego de la faena, como son la evaluación sensorial a través de un panel de degustadores entrenados o mediante métodos físicos o instrumentales como la cuchilla Warner-Bratzler (revisado por Soria y Corva, 2004). Otra técnica que se puede utilizar es la determinación del índice de fragmentación miofibrilar (IFM, Olson et al., 1976), que consiste en fragmentar las miofibrillas por acción mecánica, las cuales se rompen en fragmentos tanto más pequeños cuanto más tierno es el corte o mayor es la maduración de la carne, y determinar el tamaño de los fragmentos midiendo la densidad óptica (absorbancia) de la suspensión de miofibrillas o método turbidimétrico. El IFM está correlacionado con la fuerza de corte (-0,72) y con la terneza sensorial (0,75), porque refleja la magnitud del proceso de proteólisis *postmortem* (Culler et al., 1978). Los tres músculos presentaron diferencias en IFM y AC, confirmando la tendencia esperada de acuerdo al criterio utilizado para su selección (tierno, intermedio o duro). Para el IFM se hallaron diferencias significativas entre el *semitendinosus* y los otros dos músculos analizados (Cuadro 2).

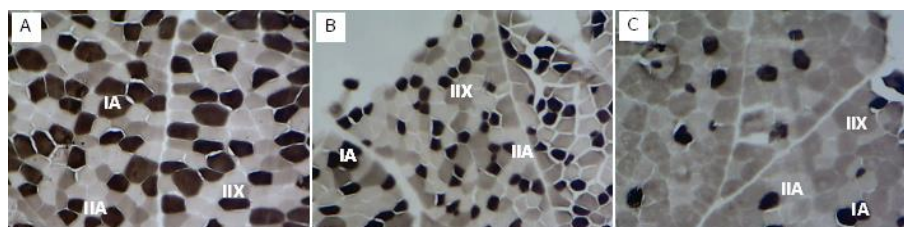


Figura 1. Proporción de cada tipo de fibra en cada músculo analizado. Cortes transversales de los tres músculos (A: *infraespinatus*, B: *triceps brachii*, C: *semitendinosus*) teñidos por reacción de miosina ATPasa, previa incubación en pH 4,3 (100X)

Figure 1. Fiber type proportions in each analyzed muscle. Serial sections of the three muscles (A: *infraespinatus*, B: *triceps brachii*, C: *semitendinosus*) stained by myosin ATPase reaction after incubation at pH 4.3 (100X)

Cuadro 1. Comparación del porcentaje de área relativa (% AR) de cada tipo de fibra de los músculos analizados.

Table 1. Comparison of percentage of each relative (%AR) fiber type area of analyzed muscles.

Músculo	Tipo de fibra		
	% AR-I	% AR-IIA	% AR-IIX
<i>Infraespinatus</i>	40,06 ± 11,67 ^{A, a}	46,13 ± 7,79 ^{A, a}	9,99 ± 9,34 ^{A, b}
<i>Triceps brachii</i>	28,08 ± 4,82 ^{B, a}	34,83 ± 4,53 ^{B, ab}	35,88 ± 7,31 ^{B, b}
<i>Semitendinosus</i>	13,13 ± 6,06 ^{C, a}	23,21 ± 6,66 ^{C, b}	61,17 ± 7,16 ^{C, c}

Medias con letras distintas dentro de la misma columna (mayúsculas) y fila (minúsculas), difieren significativamente ($p < 0,05$)

Means with different superscripts in the same column (high caps) and row (low caps) are significantly different ($p < 0.05$)

Cuadro 2. Comparación del índice de fragmentación miofibrilar (IFM) y de la actividad de calpastatina (AC) de los músculos analizados.

Table 2. Comparison of myofibrillar fragmentation index (IFM) and calpastatin activity (AC) in the three analyzed muscles.

Músculo	IFM	AC
<i>Infraespinatus</i>	45,03 ± 6,97 ^a	17,55 ± 3,65 ^a
<i>Triceps brachii</i>	40,55 ± 9,16 ^a	20,22 ± 5,38 ^a
<i>Semitendinosus</i>	30,84 ± 5,44 ^b	25,27 ± 4,16 ^b

Medias con letras distintas dentro de la misma columna difieren significativamente ($p < 0,05$)

Different superscripts in the same column are significantly different ($p < 0.05$)

Coincidentemente, el músculo *semitendinosus* presentó diferencia significativa para AC con relación a *infraespinatus* y *triceps brachii*. Al comparar el *semitendinosus* (más duro) con el *infraespinatus* (más tierno) la AC fue 44% mayor y consecuentemente el IFM fue 31,5% menor. Estos resultados permiten inferir que el músculo con mayor AC (*semitendinosus*) es el que habría sufrido un proceso de proteólisis *postmortem* de una magnitud inferior, debido a que presenta menor IFM (Cuadro 2).

Desde hace varios años se han descripto marcadores del tipo SNP en el gen de la calpastatina (CAST-1, Barendse et al., 2002 y UoG-CAST, Schenkel et al., 2006), pero la evidencia experimental disponible no permite concluir sobre el efecto de estos marcadores sobre la terneza de la carne, porque existen discrepancias en los resultados reportados hasta el momento en diferentes trabajos realizados en distintas razas bovinas (revisado por Motter et al., 2009; Motter et al., 2013). Recientemente, se han informado diferencias de expresión del gen CAST asociadas con el SNP UoG-CAST, uno de los marcadores que explican una proporción significativa de la variación fenotípica de atributos de la calidad de la carne, entre ellos la terneza (Robinson et al., 2012), hallándose una menor expresión de ARNm en animales con genotipo favorable (AA) en comparación con el desfavorable (GG) (Natrass et al., 2014). En el presente trabajo se utilizaron novillos con un mismo genotipo para dicho SNP (homocigotas AA), por lo que se eliminaron las potenciales diferencias entre animales por efecto de dicho marcador molecular.

Distintos estudios han explicado la conexión entre características de calidad de carne y la composición del tipo de fibra (Melton et al., 1974; May et al., 1977; Calkins et al., 1981; Seideman y Theer, 1986). Ozawa et al. (2000) reportaron una correlación negativa entre la terneza y el mayor contenido de fibras tipo IIx al analizar novillos Wagyu,

al igual que Hwang et al. (2010) quienes investigaron la relación del tipo de fibra de tres músculos (*longissimus dorsi*, *psoas major* y *semimembranosus*) de bovinos de raza Hanwoo con características de calidad de carne como color, terneza y veteado. Particularmente en el caso de terneza, hallaron una correlación inversa entre tipo de fibra y fuerza de corte, donde el músculo con mayor contenido de fibras I (*psoas major*) tuvo mayor terneza en comparación con el que tuvo mayor contenido de fibras IIx (*semimembranosus*).

El análisis de correlación entre las variables analizadas en este estudio para los tres músculos estudiados se muestra en el Cuadro 3. Los porcentajes de áreas relativas de fibras I y IIA se hallaron correlacionados positivamente (0,69) y ambos tipos de fibras resultaron correlacionados fuertemente en forma negativa con el porcentaje de área relativa de fibra IIx (-0,86 y -0,92, respectivamente). A su vez, el IFM se halló positivamente correlacionado con fibras rojas u oxidativas (I y IIA), y en forma negativa con las glicolíticas (IIx). Coincidentemente la correlación entre AC y tipo de fibra fue opuesta, porque se encontró que estuvo correlacionada positivamente con %AR de fibras IIx (0,53), y en forma negativa con el %AR de fibras I, no siendo significativa para el %AR de fibras IIA. Aun así, no hubo correlación significativa entre AC e IFM.

Si bien hay una tendencia clara dentro de músculo que a mayor AC se puede hallar menor IFM, esto no se observó en las correlaciones generales (Cuadro 3), por lo cual se realizó un análisis de componentes principales. De dicho análisis se desprende que las dos primeras componentes (CP1 y CP2) explicaron el 84,3% de la variabilidad total del conjunto. De acuerdo a las correlaciones con las variables originales (Cuadro 4), CP1 puede interpretarse como tipo de fibra, dadas sus mayores correlaciones con las variables que cuantificaron dicho rasgo, siendo positiva para %AR IIx (0,97) y negativa (-0,89) para los %AR de los dos tipos restantes;

Cuadro 3. Coeficientes de correlación entre IFM, AC y tipo de fibra.

Table 3. Correlation coefficients among IFM, AC and fiber type.

	IFM	AC	%AR-I	%AR-IIa	%AR-IIx
IFM		-0,24	0,43*	0,56***	-0,57***
AC			-0,60***	-0,36	0,53**
%AR-I				0,69***	-0,86***
%AR-IIa					-0,92***
%AR-IIx					

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

Cuadro 4. Análisis de componentes principales: correlaciones con las variables originales

Table 4. Principal component analysis: correlations with the original variables

Variable	CP 1	CP 2
IFM	-0,67	0,54
AC	0,64	0,66
%AR I	-0,89	-0,21
%AR IIa	-0,89	0,24
%AR IIx	0,97	-0,04

además, tuvo correlación positiva para AC (0,64) y negativa para IFM (-0,67). La segunda componente principal (CP2) explicó el 16,7% de la variabilidad total y las relaciones no se manifestaron de manera tan clara como en CP1.

En la figura de dos dimensiones de PC1 y PC2 (Figura 2) se puede observar la variabilidad de las observaciones. Alrededor del vector de fibra IIX se encuentran todas las correspondientes al músculo *semitendinosus*, todo lo opuesto ocurrió con el *infraespinatus*. En cambio, el *triceps brachii* presentó valores promedio para todas las variables,

excepto para el caso de las muestras 11 y 15. Los ángulos entre las variables pueden interpretarse en términos de correlaciones, y se puede confirmar las correlaciones indicadas en el Cuadro 3. El ángulo cercano a 90 grados en el gráfico biplot indica que el IFM no está muy conectado con AC, pero sí lo está con el tipo de fibra I y IIa. Este hallazgo indicaría que hay otros factores que determinan la relación AC-IFM dentro de músculo, por otro lado, es muy clara la relación antagónica entre el %AR de fibras IIX con el resto.

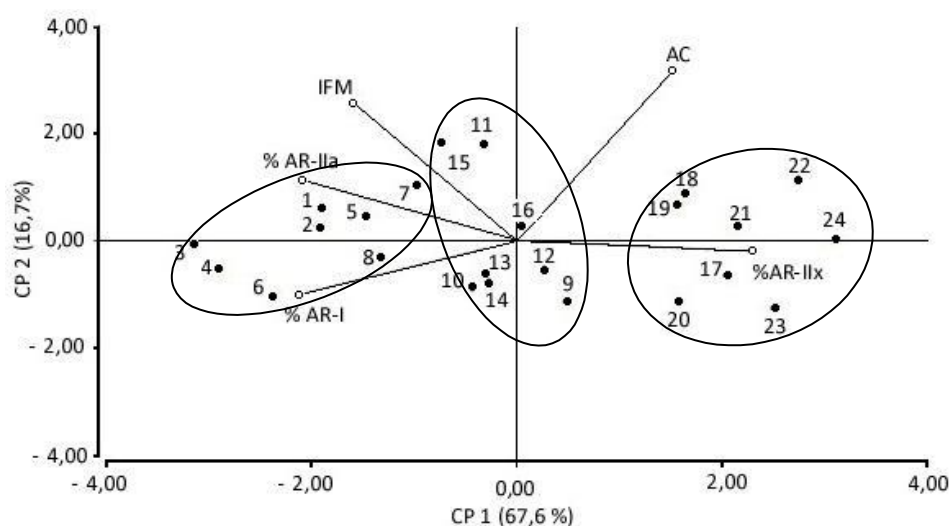


Figura 2. Plano biplot generado por el análisis de componentes principales para las variables IFM, AC y %AR de cada tipo de fibra muscular
Ref: 1-8: *infraespinatus*, 9-16: *triceps brachii* y 17-24: *semitendinosus*

Figure 2. PCA biplot for IFM, AC and %AR of each muscle fiber type

Ref: 1-8: *infraespinatus*, 9-16: *triceps brachii* y 17-24: *semitendinosus*

Conclusiones

Se concluye que en novillos Angus con genotipo AA para el marcador UoG-CAST, criados y engordados sobre pasturas con ganancia de peso moderadas y peso de faena relativamente bajos, se observó una clara diferencia en el porcentaje de área relativa de cada tipo de fibra en los músculos *infraespinatus*, *semitendinosus* y *triceps brachii*. Estas diferencias están relacionadas con la actividad de calpastatina y el índice de fragmentación miofibrilar. El músculo con mayor porcentaje de área relativa de fibra IIX (*semitendinosus*) presentó mayor actividad de calpastatina y menor índice de fragmentación miofibrilar.

De acuerdo a la información analizada, un resultado relevante de la comparación entre músculos es que la evaluación de reses tomando como referencia un único músculo en particular no sería realmente representativa para ciertas variables como la terneza. Este factor se hace extensivo al mejoramiento genético, que utiliza protocolos estandarizados en los que se evalúa mayoritariamente el músculo *longissimus dorsi*, y a la selección asistida por marcadores, dado que la actividad de calpastatina por sí misma no sería un indicador preciso de la proteólisis *postmortem* en diferentes músculos.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por ANPCyT (proyecto PICT 2014-1298) y Universidad de Buenos Aires (UBACyT programación científica 2013-2016, proyecto 20020120100120). Los novillos Angus fueron aportados por la Chacra Experimental Integrada Chascomús (MAA-INTA).

Bibliografía

- BARENDSE, W.J. 2002. DNA markers for meat tenderness. International patent publication WO 02/064820.
- CALKINS, C.R., DUTSON, T.R., SMITH, G.C., CARPENTER, L. y DAVIS, G.W. 1981. Relationship of fiber type composition to marbling of bovine muscle and tenderness. *J. Food Sci.*, 46: 708-711.
- CULLER, R.D., PARRISH, F.C., SMITH, G.C. y CROSS, H.R. 1978. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine longissimus muscle. *J. Food Sci.*, 43:1177-1180.
- DI RIENZO, J.A., CASANOVES, F., BALZARINI, M.G., GONZALEZ, L., TABLADA, M. y ROBLEDO, C.W. InfoStat versión 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- GRAZZIOTTI, G., RODRIGUEZ MENENDEZ, J.M., RIOS, C., COSSU, M.E., BOSCO, A., AFRICANO, N.O., PALTENGHI CESCHEL, A., MOSA, S. y BASSO, L. 2011. Relationship between myosin isoforms and meat quality traits in pig semitendinosus neuromuscular compartments. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 24 (1):125-129.
- HOPKINS, D.L., LITTLEFIELD, P.J. y THOMPSON, J.M. 2000. A research note on factors affecting the determination of myofibrillar fragmentation. *Meat Sci.*, 56 (1):19-22.
- HWANG, Y.H., KIM, G.D., JEON, J.Y., HUR, S.J. y JOO, S.T. 2010. The relationship between muscle fiber characteristics and meat quality traits of highly marbled Hanwoo (Korean native cattle) steers. *Meat Sci.*, 86: 456-561.
- HUFF-LONERGAN, E. 2009. Round muscle profiling and tenderness markers in beef. <http://www.beefresearch.org>
- KARLSSON, A.H., KLONT, R.E. y FERNANDEZ, X. 1999. Skeletal muscle fibres as factors for pork quality. *Livest. Prod. Sci.*, 60 : 255-269.
- KEMP, C.M., SENSKY, P.L., BARDSLEY, R.G., BUTTERY, J.P. y PARR, T. 2010. Tenderness – An enzymatic view. *Meat Sci.*, 84:248-256.
- KIRCHOFER, K.S., CALKINS, C.R. y GWARTNEY, B.L. 2002. Fiber-type composition of muscles of the beef Chuck and round. *J. Anim. Sci.*, 80 (11):2872-2878.
- KOOHMARAIE, M. 1995. The biological basis of meat tenderness and potential genetic approaches for its control and prediction. *Proc. Annu. Meat. Conf.*, 48:69.
- KOOHMARAIE, M. 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. *Meat Sci.*, 43 :193-201.
- LOWRY, O.H., ROSBROUGH, N.J., FARR, A.L. y RANDALL, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275.
- MAY, M.L., DILEMAN, M.E. y SCHALLES, R. 1977. Longissimus muscle histological characteristics of Simmental x Angus, Hereford x Angus and Limousin x Angus crossbred steers as related to carcass composition and meat palatability traits. *J. Anim. Sci.*, 44: 571-580.
- MELTON, C., DIKEMAN, M., TUMA, H.J. y SCHALLES, R.R. 1974. Histological relationships of muscle biopsies to bovine meat quality and carcass composition. *J. Anim. Sci.*, 38: 24-31.
- MILLER, B. 1992. Understanding consumers. *Beef today*, 8: 40.
- Motter, M.M., Corva, P., Krause, M., Perez Cenci, M. y L. Soria. 2009. Calpastatina: su rol en la determinación de la variabilidad en terneza de la carne bovina. *BAG-J Basic Appl. Genet.*, 20 (1): 15-24.
- MOTTER, M.M., CORVA, P.M., MARRUBE, G., MIQUEL, M.C., PAPAEO MAZZUCO, J., VILLARREAL, E.L., MELUCCI, M.L., MEZZADRA, C.A., SCHOR, A. y SORIA, L.A. 2013. Asociación de dos marcadores del gen de la Calpastatina con variables productivas de novillos Brangus engordados en pasturas. *Rev. Arg. Prod. Anim.*, 3 (1) 21-29.
- NATTRASS, G.S., CAFÉ, L.M., MCINTYRE, B.L., GARDNER, G.E., MCGILCHRIST, P., ROBINSON, D.L., WANG, Y.H., PETHICK, D.W. y GREENWOOD, P.L. 2014. A post-transcriptional mechanism regulates calpastatin expression in bovine skeletal muscle. *J. Anim. Sci.*, 92 (2):443-455.
- OLSON, D.G., PARRISH, F.C. Jr. y STROMER, M.H. 1976. Myofibril fragmentation and shear resistance of three bovine muscles during *postmortem* storage. *J. Food Sci.*, 41: 1036.

- OZAWA, S., MITSUHASHI, T., MITSUMOTO, M., MATSUMOTO, S., ITOH, N. y ITAGAKI, K. 2000. The characteristics of muscle fiber types of longissimus thoracis muscle and their influences on the quantity and quality of meat from Japanese Black steers. *Meat Sci.*, 54: 65–70.
- POMPONIO, L. y ERTBJERG, P. 2012. The effect of temperature on the activity of μ -calpain and calpastatin during post-mortem storage of porcine *longissimus* muscle. *Meat Sci.*, 91(1):50-55.
- ROBINSON, D.L., CAFE, L.M., MCINTYRE, B.L., GEESINK, G.H., BARENDSE, W., PETHICK, D.W., THOMPSON, J.M., POLKINGHORNE, R. y GREENWOOD, P.L. 2012. Production and processing studies on calpainsystemgene markers for beef tenderness: Consumer assessments of eating quality. *J. Anim. Sci.*, 90:2850–2860.
- SCHENKEL, F.S., MILLER, S.P., JIANG, Z., MANDELL, I.B., YE, X., LI, H. and WILTON, J.W. 2006. Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 84:291-299.
- SEIDEMAN, S.C. y THEER, L.K. 1986. Relationships of instrumental textural properties and muscle fiber types to the sensory properties of beef. *J. Food Quality*, 9: 251-261.
- SORIA, L.A. y CORVA, P.M. 2004. Factores Genéticos y ambientales que determinan la terneza de la carne bovina. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.*, 12 (2) 73-88
- STOLOWSKI, G.D., BAIRD, B.E., MILLER, R.K., SAVELL, J.W., SAMS, A.R., TAYLOR, J.F., SANDERS, J.O. y SMITH, S.B. 2006. Factors influencing the variation in tenderness of seven major beef muscles from three Angus and Brahman breed crosses. *Meat Sci.*, 73 (3): 475-483.
- TAYLOR, R.G. y KOOHMARAIE, M. 1998. Effects of *postmortem* storage on the ultrastructure of the endomysium and myofibrils in normal and callipyge longissimus. *J. Anim. Sci.*, 76:2811– 2817.
- TOTLAND, G.K., KRYVI, H. y SLINDE, E. 1988. Composition of muscle fibre types and connective tissue in bovine *M. semitendinosus* and its relation to tenderness. *Meat Sci.*, 23(4):303-15.